

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

ANTAGONISME MICROBIEN ET « BACTÉRIOPHAGIE »,

par ANDRÉ GRATIA.

Avant-Propos.

Ce mémoire a été rédigé en août 1926. Diverses circonstances en ont différé la publication. Il comporte trois parties. Dans la première j'ai étudié un cas typique d'antagonisme entre deux souches de microbes de même espèce, le *Coli V* et le *Coli φ*. Dans la seconde, j'ai suivi la façon dont le *Coli V* sécrète son principe antagoniste du *Coli φ*. Dans la troisième, j'ai montré le parallélisme entre cette sécrétion et le pouvoir lysogène du *Coli* de Lisbonne et Carrère.

Pendant longtemps, je n'ai plus pu reproduire les expériences sur l'antagonisme entre le *Coli V* et le *Coli φ* pour la raison que, par un de ces caprices familiers aux variations microbiennes, la souche de *Coli V* que j'ai conservée ne sécrétait plus la substance inhibitrice si remarquablement active qu'elle développait jadis contre la croissance du *Coli φ*. Tout récemment, elle a récupéré cette propriété spontanément. Ce fait — que j'avais prévu comme on le verra — a sa portée et attire notre attention sur l'importance que peuvent avoir les variations

microbiennes dans les divergences de résultats observées par différents chercheurs, surtout dans une question comme la bactériophagie où les variations microbiennes jouent un rôle si prépondérant.

Première partie.

Dans une note parue dans les *Comptes rendus de la Société de Biologie* [1], j'ai signalé le fait que voici : Un *B. coli* très virulent pour le lapin et le cobaye, et d'ailleurs isolé du sang du cœur d'un lapin mort à la fin d'une épidémie, produit en abondance, dans des cultures en bouillon, une substance extrêmement toxique pour un autre *B. coli* et aussi, à un plus faible degré, pour le bacille de Shiga. Pour la facilité de l'exposé, appelons la bactérie toxigène, le *Coli V* et la bactérie sensible, le *Coli φ*.

ANTAGONISME DU « COLI V » ET DU « COLI φ ».

EXPÉRIENCE I. — On enseme un petit ballon contenant 50 cent. cubes de bouillon ordinaire (pH 7,4) avec le *Coli V*. Après vingt-quatre heures à 37°, la culture est divisée en deux portions : la première est filtrée sur bougie Chamberland L3, la seconde chauffée à 58°. On vérifie la stérilité des deux portions, l'une filtrée et l'autre chauffée, et l'on verse X gouttes respectivement de chacune d'elles dans deux tubes de bouillon. On enseme ensuite ceux-ci, ainsi qu'un tube de bouillon témoin, avec 1 goutte d'une culture fraîche de *Coli φ*. Tandis que le dernier tube commence à se troubler, après deux heures, et donne une culture normale, les deux premiers restent tout à fait limpides pendant longtemps et ne commencent à se troubler qu'après une dizaine d'heures, pour donner finalement une culture d'aspect normal également.

Jusqu'à quelle dilution le principe V manifeste-t-il ses propriétés inhibitrices ?

EXPÉRIENCE II. — A un tube contenant 4 à 5 cent. cubes de bouillon, on ajoute 0 c. c. 5, c'est-à-dire X gouttes de culture chauffée ou filtrée de *Coli V*. Après mélange, on prélève 0 c. c. 5 de cette première dilution au 1/10 que l'on verse dans un second tube de bouillon. L'on continue ainsi une série de cinq tubes de dilutions de dix en dix fois plus grandes, qu'on enseme, ainsi qu'un tube de bouillon témoin, avec 1 goutte de *Coli φ*. Comme dans l'expérience précédente, l'inhibition se prolonge pendant une dizaine d'heures dans le premier tube ; très longue encore dans le second tube, elle se raccourcit sensiblement dans le troisième et disparaît totalement dans le quatrième tube.

L'activité du principe V se manifeste donc jusqu'à une dilution au 1/1.000. Pratiquement, on peut dire que, dans un tube de 5 cent. cubes de bouillon, une goutte, c'est-à-dire une dilution au 1/100 de principe V, inhibe la culture de *Coli* φ pendant six à huit heures. Comment se fait-il que, malgré la grande toxicité du principe V, une culture de *Coli* φ finisse par se développer en sa présence ?

PRODUCTION DE CULTURES SECONDAIRES
DE « B. COLI φ » RÉSISTANTS.

EXPÉRIENCE III. — Ensemençons avec le *Coli* φ , deux tubes de bouillon dont le second contient X gouttes de principe V. Bien que dans le second tube le *Coli* φ pousse avec un grand retard, nous avons, au bout de trente-six heures, deux cultures de *Coli* φ , l'une normale, et l'autre ayant vaincu l'action inhibitrice prolongée du principe V au 1/10. Isolons chacune de ces deux cultures et le lendemain repiquons en bouillon une colonie isolée de chacune d'elles. Les deux cultures obtenues sont alors soumises à l'action du principe V. Tandis que la première, c'est-à-dire la culture isolée de φ normal, subit l'action inhibitrice du principe V, la seconde ne la subit pas du tout et pousse aussi rapidement que la culture témoin.

Au même titre que le bactériophage, le principe V voit son action inhibitrice surmontée par le développement de microbes résistants. C'est d'ailleurs ce que l'on observe également de façon plus objective lorsqu'on étudie le phénomène sur gélose (fig. 1 et 2).

EXPÉRIENCE IV. — On place à 37° quatre tubes de gélose ensemencés avec une jeune culture de *Coli* φ . Trois heures après, on dépose, au milieu de la surface de chacune de ces quatre cultures, 1 goutte de principe V, respectivement, pur, dilué au 1/10, au 1/100 et au 1/1.000. Le lendemain, on constate que, sur le premier tube, la goutte de principe pur a laissé la marque de son passage sous forme d'une traînée de clarification nette où rien n'a poussé, sauf quelques très rares colonies résistantes; dans le second tube, le nombre de ces colonies est beaucoup plus grand; dans le troisième, elles sont confluentes et dans le quatrième il n'y a plus trace de la moindre activité du principe.

A mesure que le principe V est plus dilué, le nombre d'individus de *Coli* φ , capables de lui résister, augmente. Le *Coli* présente donc tous les degrés de sensibilité ou de résistance à l'action du principe V, comme à celle du bactériophage. C'est d'ailleurs ce que l'expérience suivante confirme.

EXPÉRIENCE V. — On reprend les trois premiers tubes de gélose de l'expérience précédente. Sur la traînée de clarification laissée par la goutte de principe V, les colonies résistantes, très rares dans le premier tube, sont de plus en plus nombreuses dans les tubes suivants, à mesure que le principe déposé est plus dilué. On repique en bouillon une colonie résistante prélevée sur chacun des trois tubes. On obtient ainsi trois cultures de microbes ayant résisté à du principe de plus en plus faible. On soumet chacune de ces cultures à l'action de principe V pur, dilué au 1/10, dilué au 1/100. Tandis que



FIG. 1. — EXP. VI. — Trainée de principe V sur culture de *Coli φ*. Quelques colonies résistantes au principe V.



FIG. 2. — Trainée de bactériophage sur culture de *Coli φ*. Quelques colonies résistantes au bactériophage.

la première culture résiste au principe à toutes les concentrations, la seconde résiste au principe dilué au 1/100 et au 1/10, mais est inhibée par le principe pur; la troisième, enfin, supporte le principe dilué au 1/100, mais est inhibée par le principe dilué au 1/10 et à plus forte raison par le principe pur.

Déposé à la surface d'une jeune culture de *Coli φ* sur gélose, le principe V laisse une traînée de clarification constellée de colonies résistantes et ressemblant à s'y méprendre à la traînée

de clarification bien connue laissée par le bactériophage. On peut se demander si les colonies résistantes au principe V le sont également au bactériophage et réciproquement. L'expérience suivante montre qu'il n'en est rien.

EXPÉRIENCE VI. — On laisse pendant trois heures à 37° deux tubes de gélose ensemencés avec du *Coli* ϕ , puis on verse au milieu de la surface de chacun d'eux respectivement 1 goutte de principe V et 1 goutte d'un bactériophage très actif pour le *Coli* ϕ . Le lendemain, l'aspect des deux tubes est absolument identique. On repique en bouillon une colonie résistante du premier tube, qui a subi l'action du principe V, et une colonie résistante du second tube qui a subi l'action du bactériophage. Le jour suivant, on essaie sur chacune de ces cultures l'action du principe V et du bactériophage. La première résiste au principe V, mais est sensible au bactériophage; la seconde, au contraire, résiste au bactériophage, mais est sensible au principe V.

RÉSISTANCE DU PRINCIPE V A LA CONSERVATION ET A LA CHALEUR.

Le principe V est très stable et résiste à la conservation. Le principe V est aussi remarquablement thermostable et ne commence à s'altérer légèrement qu'après un chauffage d'une demi-heure à 120°.

EXPÉRIENCE VII. — On ensemence 50 cent. cubes de bouillon avec du *Coli* V. Après vingt-quatre heures à 37°, la culture est filtrée et répartie en plusieurs tubes scellés que l'on conserve à la température du laboratoire. On ouvre ces tubes à divers intervalles de temps, pour en essayer l'activité. Après plusieurs mois de conservation, le principe est encore actif.

EXPÉRIENCE VIII. — On immerge, pendant une demi-heure, cinq ampoules scellées contenant chacune 1 cent. cube de principe V, dans des bains-marie maintenus respectivement aux températures de 58°, 65°, 80°, 100° et à l'autoclave à 120°. Après ce traitement, on essaie l'activité du contenu de chacune de ces ampoules et constate qu'elle est restée parfaitement intacte dans les quatre premières ampoules. Dans la cinquième, qui a été placée pendant une demi-heure à l'autoclave à 120°, l'activité, quoique légèrement atténuée, est encore bien nette.

ESSAIS DE PURIFICATION DU PRINCIPE V.

Avec l'aide obligeante de M^{lle} D. Doyle, j'ai entrepris un essai sommaire de purification du principe V. Voici le résultat de nos tentatives.

EXPÉRIENCE IX. — On ajoute dix volumes d'alcool absolu à 5 cent. cubes de principe V. Il se fait un précipité qu'on laisse se former complètement pen-

dant vingt-quatre heures et dont on achève alors la sédimentation par quelques tours de turbine. On décante le liquide surnageant qu'on évapore à siccité dans le vide. On redissout le léger résidu dans 5 cent. cubes d'eau physiologique qu'on filtre ensuite sur bougie Chamberland L3. Quant au précipité, après un lavage avec quelques centimètres d'alcool absolu, puis, après dessiccation dans le vide, on le redissout dans 5 cent. cubes d'eau physiologique et on le filtre sur bougie L3. On essaie ensuite l'activité des deux filtrats, l'un contenant la portion soluble et l'autre la portion insoluble dans l'alcool. Toutes les deux sont également inactives.

Nous avons été plus heureux avec l'acétone.

EXPÉRIENCE X. — On procède comme dans l'expérience précédente, mais en utilisant de l'acétone au lieu d'alcool. Dans ce cas, la partie soluble dans l'acétone est inactive, mais la partie insoluble est aussi active que le principe non traité. Si la partie insoluble dans l'acétone et active est traitée par de l'alcool absolu avant d'être remise en solution dans l'eau physiologique, elle perd complètement son pouvoir inhibiteur à l'égard du *Coli* ϕ .

Il résulte de ces essais qu'à l'exemple du bactériophage, le principe V peut être entraîné à l'état actif par le précipité formé par l'acétone, mais est, par contre, détruit par l'alcool absolu.

RÉSISTANCE DU PRINCIPE V A LA QUININE.

Comment se comporte-t-il à l'égard des sels neutres de quinine qui, à la dose de 1 p. 100, d'après les recherches de Pozerski et Eliava, détruisent le bactériophage?

EXPÉRIENCE XI. — On ajoute 0 c. c. 5 d'une solution stérile de chlorhydrate de quinine à 10 p. 100, à deux tubes contenant, l'un, 4 c. c. 5 de bouillon et l'autre de principe V. Dans les deux tubes, il se forme un léger trouble qui, le lendemain, après vingt-quatre heures de séjour à 37°, s'est déposé au fond des tubes. A six tubes de bouillon, on ajoute respectivement X gouttes et I goutte de bouillon quininé, X gouttes et I goutte de principe V quininé, X gouttes et I goutte de principe V normal. On ensemence ensuite tous ces tubes ainsi qu'un tube témoin, avec I goutte de *Coli* ϕ . Après quelques heures, on constate que le bouillon quininé ne retarde pas la culture, c'est-à-dire qu'à cette concentration la quinine mise en jeu n'a aucune action inhibitrice propre; par contre, le principe V quininé est tout aussi inhibiteur que le principe normal.

Le chlorhydrate de quinine à 1 p. 100 n'altère donc nullement le principe V après vingt-quatre heures de contact.

DIFFUSIBILITÉ ET ULTRAFILTRATION DU PRINCIPE V.

Le principe V est extrêmement diffusible ainsi qu'il ressort des expériences suivantes (fig. 3):

EXPÉRIENCE XII. — Au centre d'une boîte de Pétri contenant de la gélose, on ensemence par piqûre une trace de *Coli* V. Après vingt-quatre heures à 37°, il s'est développé à l'endroit ensemencé une colonie qu'on enlève, complètement et bien stérilement, à l'emporte-pièce. On ensemence alors toute la surface de la gélose, en y faisant ruisseler une culture en bouillon de *Coli* ϕ . La boîte de Pétri, placée ensuite à l'étuve à 37°, la surface de la gélose tournée vers le bas, offre le lendemain un aspect tout à fait démonstratif. Le *Coli* ϕ a poussé partout, sauf sur un cercle de 3 cent. de

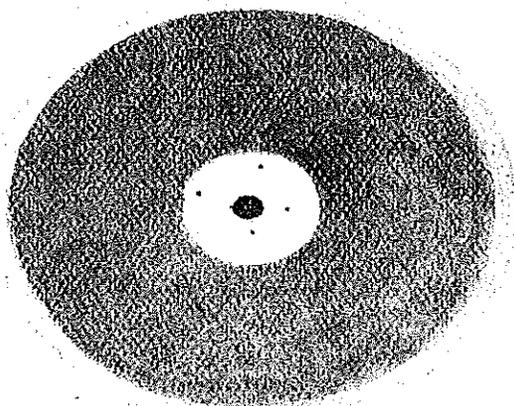


FIG. 3. — Exp. XII. — Culture de *Coli* ϕ sur boîte de Petri, au centre, colonie de *Coli* V, avec zone de diffusion du principe inhibiteur dans laquelle quelques colonies résistantes de *Coli* ϕ .

diamètre, dont le centre est occupé par l'endroit où le *Coli* V avait poussé et d'où le principe V avait largement et régulièrement diffusé tout autour.

Cette diffusibilité du principe V lui permet de traverser une fine membrane de cellophane, imperméable au *Coli* V lui-même. Pour la démonstration, faisons l'expérience suivante.

EXPÉRIENCE XIII. — On verse 40 cent. cubes de bouillon dans le fond d'une boîte de Pétri. On recouvre celle-ci d'une mince feuille de cellophane débordant le pourtour de la boîte et sensiblement déprimée en son centre de façon à lui donner une concavité dans laquelle on verse également 5 cent. cubes de bouillon. L'on a ainsi 2 couches de bouillon séparées par la feuille de cellophane. On fixe ensuite le pourtour de celle-ci simplement en posant le couvercle de la boîte et stérilise le tout à 120°. Après refroidissement, on

ensemence avec le *Coli V* la couche supérieure de bouillon. Après vingt-quatre heures à 37°, la culture a poussé dans cette couche supérieure et n'a pas pénétré dans la couche inférieure, mais y a laissé abondamment diffuser son principe actif, ainsi qu'on peut aisément le vérifier.

Signalons, en passant, que ce dispositif très simple m'a d'ailleurs permis d'observer que le bactériophage diffuse semblablement à travers une membrane de « cellophane ». La première fois que j'ai observé l'action inhibitrice du principe V, j'ai pensé — tant la similitude du phénomène en bouillon et surtout sur gélose est grande — qu'il s'agissait de bactériophage et que le *Coli V* était un *Coli* lysogène semblable à ceux étudiés par Lisbonne et Carrère. Si cette analogie paraît confirmée par l'égale diffusibilité du principe V et du bactériophage, par la précipitation sous forme active par l'acétone et la destruction par l'alcool; en revanche, sa résistance à des températures aussi élevées que 120°, sa résistance à la quinine, et surtout sa non-régénéralité comme nous allons le voir, écarte complètement toute confusion.

LE PRINCIPE V NE SE RÉGÈNÈRE PAS.

EXPÉRIENCE XIV. — On verse X gouttes de principe V dans un tube de bouillon ensemencé de *Coli* ϕ . Le lendemain, on filtre la culture qui s'est développée après avoir subi une inhibition d'une dizaine d'heures. On verse X gouttes de ce filtrat dans un second tube de bouillon ensemencé de *Coli* ϕ . Le lendemain, on filtre cette culture qui a subi une inhibition de six à huit heures. On verse X gouttes de ce filtrat dans un troisième tube ensemencé de *Coli* ϕ . Cette fois, l'inhibition est beaucoup plus courte. Après vingt-quatre heures, on filtre cette troisième culture et on verse X gouttes dans un quatrième tube ensemencé de *Coli* ϕ . On n'observe plus la moindre inhibition.

Au quatrième passage, l'action du principe V a disparu par dilution et de façon définitive, car elle ne reparaît plus dans la suite, même si on continue les passages un grand nombre de fois. Peut-être arriverait-on à un résultat positif si au cours des passages on maintenait une cohabitation du *Coli* ϕ et du *Coli V*. Mais l'essai réalisé dans l'expérience suivante n'a pas été plus heureux.

EXPÉRIENCE XV. — On ensemence un tube de bouillon avec une goutte d'une culture fraîche de *Coli* ϕ . Après deux à trois heures à 37°, le bouillon commence à former un trouble bien net. On ajoute alors X gouttes de principe V

et une trace de *Coli V*. Le développement de la culture s'interrompt pendant quelque temps, mais, le lendemain, le bouillon est complètement trouble et offre l'aspect d'une culture de *Coli V*, celui-ci ayant évidemment pris le dessus sur le *Coli φ*. On filtre ce premier tube et ajoute X gouttes du filtrat ainsi qu'une trace de *Coli V* à une nouvelle culture de *Coli φ* âgée de deux à trois heures, avec le même résultat que la veille. On continue ces passages quotidiens au cours desquels *Coli V* et *Coli φ* sont en conflit permanent, pendant vingt jours consécutifs. A partir de ce moment, on continue les passages sans plus aucune addition de *Coli V*, comme dans l'expérience précédente, avec le même résultat négatif d'ailleurs.

Le principe V, très toxique pour le *Coli φ*, l'est également à un plus faible degré pour le Shiga. Aussi ai-je répété les deux dernières expériences en remplaçant le *Coli φ* par le bacille de Shiga, sans plus de succès. Il n'y a donc aucun doute, le principe V n'est pas du bactériophage, c'est un produit du métabolisme du *Coli V*, très toxique pour le *Coli φ*, le bacille de Shiga, pour d'autres encore peut-être et inoffensif pour les nombreux autres microbes que j'ai essayés. Comme conséquence de cette absence de régénération, le principe V — nous l'avons vu — supporte beaucoup moins bien la dilution que le bactériophage. Celui-ci, même à la concentration infime d'un milliardième, ne tarde pas à récupérer son maximum de concentration et d'activité. L'action du principe V, au contraire, s'éteint définitivement dès la dilution à 1/100. Semblablement, lorsque le bactériophage est trop dilué pour former encore une traînée de clarification confluyente sur une culture en gélose, son action se manifeste cependant encore par des clarifications localisées à certains endroits, sous forme de taches vierges parfaitement circulaires et d'autant moins nombreuses que le bactériophage est plus dilué. Le principe V, lui, lorsqu'il est trop dilué pour faire encore une traînée de clarification appréciable, ne peut pas former de tache. Sans doute, même à une dilution inférieure au 1/1.000, peut-il encore agir s'il rencontre des individus de *Coli φ* suffisamment sensibles pour subir son action, mais celle-ci, ne pouvant de là rebondir, se limite à cet individu microscopique dont l'arrêt de développement échappe forcément à nos sens. On peut cependant, avec le *Coli V*, ménager l'expérience suivante dont le résultat reproduit à s'y méprendre les taches de bactériophage (fig. 4 et 5).

EXPÉRIENCE XVI. — On ensemence avec le *Coli* ϕ 5 tubes contenant 9 cent. cubes de bouillon; on ensemence également un tube de bouillon avec le *Coli* V. Après quelques heures à 37°, les cultures étant en plein développement, on verse 1 cent. cube de la culture de *Coli* V dans un premier tube de *Coli* ϕ . L'on a ainsi une dilution au 1/10 de *Coli* V dans le *Coli* ϕ . De ce premier mélange, on verse 1 cent. cube dans le second tube de *Coli* ϕ et ainsi de suite, on continue des dilutions successives de dix en dix fois plus grandes de *Coli* V dans le *Coli* ϕ . On étale ensuite sur 3 tubes de gélose une



FIG. 4. — EXP. XVI. — Culture de *Coli* ϕ contenant du *Coli* V très dilué.



FIG. 5. — Culture de *Coli* ϕ contenant du bactériophage très dilué.

goutte respectivement des dilutions 10^{-3} , 10^{-4} et 10^{-5} . Le lendemain, ces 3 cultures sur gélose de *Coli* ϕ , contenant des quantités de dix en dix fois plus petites de *Coli* V, présentent l'aspect tout à fait remarquable que voici : sur le fond de la culture de *Coli* ϕ apparaissent des taches de clarification circulaires identiques à des taches de bactériophage ; ces taches sont dix fois plus nombreuses dans le premier tube que dans le second et cent fois plus nombreuses que dans le troisième. Avec une loupe on voit, au centre de chacune de ces taches, une minuscule colonie de *Coli* V.

Le résultat de cette expérience rappelle à ce point les effets du bactériophage que le rapprochement entre eux s'impose. On ne peut s'empêcher de songer combien les taches claires, si caractéristiques de l'action du bactériophage dilué, peuvent être un argument puissant, aux yeux de d'Hérelle, en faveur de sa conception. D'après cet auteur, en effet, les taches claires sont de véritables colonies du virus bactériophage — d'autant moins nombreuses que celui-ci est plus dilué — et, comme il s'agit d'un virus invisible, ces colonies sont aussi invisibles mais se trahissent en négatif par leur effet bactériolytique sur la culture du microbe sensible. Or, dans l'expérience précédente les taches claires, si semblables à celles du bactériophage, sont effectivement des colonies, et des colonies visibles d'un microbe visible, le *Coli V*. Si le *Coli V* était suffisamment petit pour traverser les filtres et échapper à nos yeux, la ressemblance serait plus frappante encore, les taches qu'il forme seraient identiques aux taches de bactériophage. Il n'est donc pas impossible que ces dernières soient réellement des colonies de virus comme le pense d'Hérelle. La conception de cet auteur pourrait donc être exacte et devrait être simplement étendue du domaine de l'invisible à celui du visible. Avec B. Rhodes [2], j'ai montré que des staphylocoques vivants pouvaient détruire les staphylocoques morts. Ce phénomène a été retrouvé ultérieurement par Twort [3], puis par Duran Reynals [4]. Avec Sara Dath [5], j'ai redécouvert après Lieske [6] la lyse de nombreuses bactéries vivantes par une moisissure, le streptothrix, phénomène que j'ai désigné sous le nom de « mycolyse » et qui se rapproche beaucoup de celui de l'antagonisme provoqué étudié par Schiller [7]. Déjà Pinoy [8] et Vuillemin avaient étudié jadis des myxomycètes ne pouvant se développer que sur des milieux contenant des bacilles fluorescents ou pyocyaniques qu'ils emportent d'ailleurs toujours avec eux et dont il est très difficile de les séparer. C'est Vuillemin qui a créé à ce moment le terme de « bactériophage » pour désigner ces myxomycètes. Entre les bactériophages de Vuillemin et Pinoy et le bactériophage de d'Hérelle, existeraient toute une série d'intermédiaires et les microbes, tels le *Coli*, pourraient succomber à de véritables maladies infectieuses dues non seulement à des virus filtrables, intracellulaires, les bactériophages de d'Hérelle,

mais encore à des bactéries visibles extracellulaires, produisant des toxines antimicrobiennes, tel le *Coli V*, absolument comme un lapin peut mourir de l'herpès ou du tétanos.

Cette conception d'Herellienne, en quelque sorte étendue, est tentante et l'esprit y chercherait volontiers une certitude où se reposer; mais il ne tarderait pas à s'apercevoir qu'il enferme ainsi le problème du bactériophage dans l'inconnu où se trouvent plongés les virus filtrables, alors qu'il est peut-être possible d'en sortir ceux-ci grâce au bactériophage, ainsi que le suggérait aussi Wollman [9] dans un récent travail. Une autre considération, d'ailleurs, nous incite à la réflexion. N'est-il pas singulier que les deux microbes dont nous avons étudié l'antagonisme sont précisément deux microbes très voisins? La bactérie toxique V, la bactérie lysogène en somme, pour employer une expression consacrée, et la bactérie sensible ϕ , la bactérie lysable si l'on veut, sont toutes les deux du *B. coli*. N'est-ce là qu'une coïncidence? Qu'arriverait-il, si la petite distance qui sépare ces deux cultures voisines disparaissait et si alors les deux propriétés, la propriété lysogène et la propriété lysable, se confondaient dans une même culture? Que donnerait alors la dernière expérience? Les quelques individus lysogènes, disséminés parmi les individus lysables, en se multipliant, inhiberaient tout d'abord la croissance de ces derniers tout autour d'eux, ils produiraient des taches claires et formeraient au centre de ces taches une colonie comme le *Coli V*, mais ces individus lysogènes étant eux-mêmes lysables, la colonie disparaîtrait à nos yeux et ne laisserait plus qu'une tache vierge, une tache de bactériophage. Une semblable éventualité est d'ailleurs réalisée par certaine culture de charbon. Et voilà comment, encore une fois, la même expérience si favorable à la théorie de d'Hérelle nous ramène à la conception de Bordet et Ciuca.

Cette explication, il est vrai, implique la condition inéluctable que voici. Si, dans la bactériophagie, les deux propriétés, lysogène et lysable, sont confondues dans le même microbe, il faut cependant qu'elles y soient séparées dans le temps et que le microbe sensible puisse d'abord être lysogène avant d'être lysé. Or, cette condition est précisément conforme à la réalité. Il résulte, en effet, des observations de différents auteurs et plus

particulièrement de celles de Doerr et Grüniger [10] qu'une culture contenant du bactériophage commence toujours par se multiplier et par régénérer le bactériophage avant de se lyser. J'ai même observé des cultures de staphylocoque qui régénéraient totalement le bactériophage huit jours avant la lyse; elles étaient donc bien lysogènes avant de se lyser.

Ces considérations nous amènent donc logiquement à envisager l'hypothèse du bactériophage, sécrétion microbienne. Nous allons pour cela reprendre l'étude du principe V, non plus dans ses relations avec la bactérie sensible, le *Coli* ϕ , mais avec la bactérie productive, le *Coli* V.

Deuxième partie.

PRODUCTION DU PRINCIPE V.

A quel moment de son développement le *Coli* V produit-il des quantités appréciables de principe V?

EXPÉRIENCE XVIII. — On ensemence huit tubes de bouillon avec du *Coli* V, puis on le place à 37°. On filtre le premier tube trois heures plus tard, au moment où la culture forme déjà un trouble bien visible, puis on continue à filtrer ainsi un tube toutes les deux heures, c'est-à-dire à la cinquième, septième, neuvième, onzième et treizième heure. On filtre encore deux tubes l'un à la vingt-quatrième et l'autre à la trente-sixième heure. On verse alors 1 goutte de chacune de ces huit cultures filtrées respectivement sur huit tubes de gélose récemment ensemencés de *Coli* ϕ . Seuls les deux derniers filtrats laissent sur leur passage une traînée de clarification.

Une culture de *Coli* V en bouillon forme du principe V en quantité suffisante pour marquer son action par une traînée de clarification sur une culture de *Coli* ϕ en gélose, lorsqu'elle a atteint un complet développement, c'est-à-dire lorsque la culture est très opaque et présente à la fois un dépôt dans le fond du tube, un voile à la surface et une collerette au niveau du ménisque. En vérité, l'élaboration du principe V commence sensiblement plus tôt; mais il est compréhensible que, pour manifester son activité par une traînée de clarification bien nette, il doit dépasser un certain seuil de concentration; il doit affecter la quasi-totalité des germes de *Coli* ϕ ensemencés sur le tube de gélose; si, étant moins concentré, il n'en frappe

qu'une partie, les germes non atteints sont suffisamment nombreux pour former une culture confluent.

Il va de soi que les résultats des expériences précédentes obtenues avec un milieu de culture très nutritif, permettant un développement abondant et rapide de *Coli V*, seront différents selon les milieux de culture employés. Moins le milieu est favorable à la culture et moins la production du principe V sera rapide. Des différences très accusées se manifestent déjà entre deux échantillons différents de bouillon ordinaire. En voici un exemple :

EXPÉRIENCE XX. — On ensemence avec du *Coli V* deux tubes de bouillon différent, l'un bien foncé et l'autre pâle. Après vingt-quatre heures à 37°, la culture dans le premier tube est très opaque, elle présente un dépôt dans le fond, un voile à la surface et une collerette au ménisque. La seconde est simplement opaque sans dépôt ni voile. On filtre les deux cultures, puis on dépose 1 goutte de chacune d'elles, respectivement, sur la surface de deux tubes de gélose ensemencés de *Coli φ*. Seule la première culture filtrée laisse la traînée de clarification caractéristique.

INFLUENCE DE LA RÉACTION DU MILIEU.

Un bouillon pâle, peu favorable au développement du *Coli V*, est corrélativement peu favorable à la production du principe V. Un autre facteur très important pour la production du principe V est l'évolution du pH dans la culture. Il est aisé de montrer que le principe V disparaît rapidement dans un milieu dont le pH est inférieur à 5,0. Il en résulte que le bouillon glucosé, bien que très favorable au développement du *Coli V*, ne convient pas à la production du principe V, pas plus d'ailleurs qu'à la production de certaines toxines ou à la régénération du bactériophage comme d'Hérelle l'avait signalé.

En répétant l'expérience XVIII dans du bouillon glucosé, on constate, en effet, que si l'apparition du principe V y est plus précoce que dans le bouillon ordinaire, en revanche il ne s'y maintient pas, par suite de l'abaissement du pH . A plus forte raison, l'eau peptonée glucosée est-elle un milieu défavorable. La culture y étant peu rapide, elle n'y a pas encore atteint un développement suffisant pour produire assez de principe V que déjà le pH , par manque de tampon dans le milieu, est descendu en dessous de la limite compatible avec l'existence de ce principe.

Comme nous l'avons vu (exp. VII) le principe V est extrêmement stable et se conserve de façon indéfinie, tout au moins lorsqu'il a été séparé par filtration des microbes producteurs. Qu'advient-il si on conserve le principe au contact des microbes, c'est-à-dire si on laisse vieillir la culture de *Coli V* sans la filtrer ?

DESTRUCTION DU PRINCIPE V AU CONTACT DU « B. COLI V ».

EXPÉRIENCE XXII. — On place, à 37°, 50 cent. cubes de bouillon ordinaire ensemencé avec du *Coli V*. On prélève des échantillons de la culture après un jour, deux jours, huit jours, quinze jours, trois semaines. On filtre chaque fois ces échantillons et on essaie leur activité en en plaçant 1 goutte sur un tube de gélose ensemencé de *Coli φ*. L'activité a disparu entre le huitième et le quinzième jour.

Conservé au contact de la bactérie productrice, le principe V perd son action inhibitrice en moins de quinze jours. C'est exactement ce qui se passe pour une toxine, la toxine diphtérique, par exemple, qui reste active pendant très longtemps lorsqu'elle est filtrée, mais perd rapidement sa toxicité lorsqu'elle est abandonnée au contact du bacille producteur.

VARIATIONS DU POUVOIR TOXIGÈNE DU « B. COLI V ».

Lorsque dans une vieille culture de *Coli V* en bouillon le principe V a complètement disparu, les bactéries ont-elles conservé leur pouvoir toxigène ?

EXPÉRIENCE XXIII. — Une culture de *Coli V* en bouillon a été conservée dans un ballon pendant six mois. On en filtre un échantillon et vérifie que le filtrat n'a plus la moindre action inhibitrice sur le *Coli φ*. On soumet cette culture à l'isolement. Le lendemain on repique en bouillon, d'une part la culture totale non isolée, d'autre part quatre colonies isolées. Après vingt-quatre heures d'étuve, on filtre les cinq cultures, préalablement repiquées, et essaie leur activité sur des tubes de gélose récemment ensemencés avec le *Coli φ*. La culture totale ainsi qu'une seule des cultures isolées sont actives ; les trois autres cultures isolées sont inactives.

Dans une vieille culture de *Coli V* en bouillon, il existe des différences individuelles parmi les bactéries qui la constituent. Certaines ont conservé leurs propriétés toxigènes, un plus

grand nombre les ont perdues. En vérité, cette perte d'activité n'est que passagère. A preuve, l'expérience suivante :

EXPÉRIENCE XXIV. — Reprenons une des trois cultures isolées inactives et soumettons-la à des repiquages successifs quotidiens. On essaie tous les jours l'activité de chaque repiquage, chauffé ou filtré, en en laissant tomber une goutte sur un tube de gélose récemmentensemencé de *Coli* φ . Au quatrième repiquage, la culture a complètement récupéré son activité. Il est aisé de vérifier que les autres cultures isolées récupèrent également leur activité, les unes un peu plus rapidement que les autres.

La production du principe V est d'autant plus intense et plus rapide que le *Coli* V se multiplie plus activement. Maximale dans les cultures jeunes régulièrement entretenues, la production se ralentit, puis s'éteint à mesure que la culture vieillit. Le principe V s'altère, puis disparaît, tandis que les bactéries elles-mêmes entrent en léthargie et tendent à perdre leur pouvoir toxigène. Toutefois, cette perte d'activité est passagère; le mécanisme de la sécrétion, plus ou moins arrêté par un long séjour dans des conditions de vie latente, se remet en fonction, dès que, par une série de repiquages successifs, on restitue au microbe sa pleine vitalité. C'est, d'ailleurs, ce qui découle avec plus de netteté encore des observations suivantes :

Lorsqu'au lieu d'une culture de *Coli* V en bouillon on laisse vieillir une culture de *Coli* V en eau peptonée glucosée, le pH s'abaisse rapidement et ne tarde pas à descendre, dès la douzième heure, en dessous de pH 4.0. Dans ces conditions, non seulement le principe V ne résiste pas, mais le *Coli* V lui-même succombe progressivement, mais rapidement, et après cinq jours la culture est stérile. Or, une fois j'ai obtenu le résultat différent que voici : Contrairement à l'habitude, une culture en eau peptonée glucosée contient encore, après plus de huit jours, un grand nombre de bactéries vivantes, puisque 1 goutteensemencée sur gélose donne une culture confluyente. Or, ces individus vivants, adaptés au milieu devenu acide, ne se développent plus aussi bien en bouillon ordinaire que le *Coli* V normal. Après vingt-quatre heures à 37°, ils donnent une culture translucide, sans dépôt au fond du tube et sans voile à la surface. Comme il faut s'y attendre, cette culture insuffisante ne contient pas assez de principe V pour faire une traînée de clarification sur un tube de géloseensemencé de *Coli* φ .

EXPÉRIENCE XXV. — A la surface de deux tubes de gélose récemment ensemencés de *Coli*, on verse une goutte respectivement d'une culture en bouillon de *Coli* V normal et d'une culture en bouillon de *Coli* V ayant survécu dans le milieu peptoné glucosé, toutes deux âgées de vingt-quatre heures et filtrées. Seul le premier filtrat laisse sur son passage la traînée de clarification caractéristique.

Cette perte d'activité du *Coli* V adapté au milieu devenu acide paraît cette fois définitive; mais en vérité, pour plus durable, elle n'en est pas moins passagère.

EXPÉRIENCE XXVI. — On repique chaque culture en série; d'une part, le *Coli* V normal et d'autre part le *Coli* V inactif. Chaque jour aussi, sitôt le repiquage assuré, on filtre les deux cultures et on essaie leur activité sur des tubes de gélose récemment ensemencés de *Coli* ϕ . Après un certain nombre de repiquages, la culture du *Coli* V inactif semble devenir graduellement plus épaisse et tend à regagner les caractères du *Coli* V normal. Au neuvième repiquage, le retour à l'aspect normal est presque complet et, au dixième, les deux cultures sont indistinguables. Or, précisément à ce dixième repiquage, le retour à l'aspect normal du *Coli* V inactif coïncide avec le retour de l'activité, celle-ci se manifestant par une traînée de clarification au moins aussi nette que celle laissée par le *Coli* V normal à la surface d'une culture de *Coli* ϕ sur gélose.

La production du principe V est, nous l'avons vu plus haut, d'autant plus intense que le milieu de culture est plus favorable à la croissance, mais à milieu de culture égal elle l'est aussi d'autant plus que le *Coli* V est plus vivace.

L'étroite relation entre la production du principe V et la multiplication cellulaire, si évidente dans les expériences précédentes et si naturelle puisqu'il s'agit d'un produit du métabolisme du *Coli* V, évoque singulièrement nos connaissances sur la régénération du bactériophage et va se retrouver de façon absolument identique dans l'étude de la production du bactériophage anti-Shiga par un *Coli* lysogène de Lisbonne et Carrère.

Troisième partie.

PARALLÉLISME ENTRE LE POUVOIR LYSOGÈNE DU « COLI » LISBONNE

ET DU POUVOIR TOXIGÈNE DU « COLI V » POUR LE « COLI ϕ ».

Je ne puis ici rappeler en détail ni ce que l'on entend par pouvoir lysogène, ni la distinction faite récemment par Bordet [41] entre un pouvoir lysogène passif ou provoqué et un

pouvoir lysogène actif ou naturel. Le premier est celui qu'une souche microbienne normale acquiert par contact avec un bactériophage d'une origine qui lui est étrangère et dont on le débarrasse avec la plus grande facilité, soit mécaniquement par l'isolement (Kuttner, Gratia), soit chimiquement par l'immersion dans le sérum antilytique correspondant (Bordet et Ciuca). Le second est l'apanage de ces curieuses souches de *B. coli* isolées par Lisbonne et Carrère [12] et qui, sans présenter aucun caractère particulier, engendrent dans leur culture du bactériophage anti-Shiga. Ces souches, longuement étudiées par Bordet dans un mémoire récent, ont beau être isolées un grand nombre de fois successivement (Bordet) même après avoir été traitées au préalable par du sérum antilytique (Mac Kinley), elles donnent toujours des colonies parfaitement normales et qui, toutes indistinctement, mais à des degrés variables, donnent du bactériophage anti-Shiga. Il semble bien que chaque individu de *Coli* Lisbonne possède ce pouvoir lysogène comme un attribut normal de son métabolisme.

Avec l'aide obligeante de M^{lle} Doyle, j'ai également essayé, sans y parvenir, de faire disparaître les propriétés lysogènes du *Coli* Lisbonne par différents procédés, notamment en le laissant séjourner dans des cultures en eau peptonée (1 p. 100) glucosée (1 p. 100). Ce milieu, utilisé par Da Costa Cruz [13], dans ses expériences sur le rôle des électrolytes, ne convient pas à la régénération du bactériophage à un double titre, tout d'abord parce que, d'après ce dernier auteur, l'eau peptonée est pauvre en sels dissociés, ensuite parce que, comme l'a montré d'Hérelle, un milieu sucré acquiert une acidité incompatible avec l'action du bactériophage.

EXPÉRIENCE XXVII. — On ensemence, avec du *Coli* Lisbonne, un ballon contenant de l'eau peptonée glucosée (eau distillée : 100 grammes, peptone de Witte : 1 gramme, glucose : 1 gramme) et le place à 37°. On prélève des échantillons de cette culture à différents intervalles au cours de son développement. Après trois, six, dix, vingt-quatre et trente-six heures, on chauffe chaque échantillon à 58°, on en mesure le pH ainsi que sa teneur en bactériophage anti-Shiga.

pH initial : 7,6	Titrage du bactériophage anti-Shiga.
pH après 3 heures : 7,5 . . .	++
pH après 6 heures : 6,0 . . .	+++
pH après 10 heures : 4,8 . . .	++++
pH après 24 heures : 4,0 . . .	-----

Pendant les dix premières heures, on voit que la production du bactériophage anti-Shiga augmente parallèlement au développement de la culture, tandis que le pH s'abaisse progressivement jusqu'à atteindre une acidité incompatible avec l'existence du principe. Après vingt-quatre heures, le pH étant descendu en dessous de 4,0, on ne trouve plus trace de bactériophage dans la culture chauffée à 58°, même après plusieurs passages sur le bacille Shiga.

EXPÉRIENCE XXVIII. — Fort du résultat précédent, on ensemence du *Coli* Lisbonne dans de l'eau peptonée glucosée. Après quarante-huit heures de culture à 37°, alors que toute trace de bactériophage a disparu dans le milieu, ainsi qu'on le vérifie encore, l'on soumet la culture à l'isolement. Le lendemain, on repique en bouillon 10 colonies isolées, qui toutes, après vingt-quatre heures de culture, donnent du bactériophage anti-Shiga.

Bien que toute trace de bactériophage ait disparu du milieu, après quarante-huit heures de séjour dans de l'eau peptonée glucosée devenue acide, chaque individu du *Coli* Lisbonne a conservé intact son pouvoir lysogène. Chaque individu du *Coli* Lisbonne possède donc en lui le déterminisme de la lyse du bacille Shiga, absolument comme chaque individu de *Coli* V contient en lui le déterminisme du principe anti φ . Or, ce déterminisme ne joue plus, dès que l'on tue le *Coli* Lisbonne à la température de 57° qui, pourtant, respecte le bactériophage. On peut alors mettre des millions de *Coli* Lisbonne tués en contact avec du Shiga sans provoquer la lyse de ce dernier.

EXPÉRIENCE XXIX. — On ensemence le *Coli* Lisbonne dans un tube d'eau peptonée glucosée. Après quarante-huit heures à 37°, lorsque la culture devenue acide est privée de tout bactériophage, on la centrifuge, on décante le liquide surnageant, tandis que le culot d'abord lavé à l'eau physiologique est remis en suspension dans un tube de bouillon ordinaire. On prélève aussitôt 1 cent. cube de cette émulsion, pour commencer une série de 10 dilutions successives de dix en dix fois plus grandes, dans des tubes de bouillon, tandis qu'on chauffe à 57° le restant de l'émulsion mère. On obtient ainsi, d'une part, un tube de bouillon contenant des millions d'individus de *Coli* Lisbonne tués (émulsion mère) et d'autre part une série de tubes contenant des quantités décroissantes de *Coli* Lisbonne vivants. Le lendemain, celui-ci s'est développé jusqu'au huitième tube de la série de dilutions. On chauffe le huitième tube à 57°, puis on y recherche, avec un résultat positif, la présence de bactériophage anti-Shiga, tandis que l'on n'en trouve pas du tout dans le tube contenant l'émulsion mère tuée.

Une trace infime, voire même un seul individu de *Coli* Lisbonne vivant, peut, en se multipliant, produire la lyse du

bacille de Shiga, tandis que des millions de *Coli* Lisbonne tués à une température respectant pourtant le bactériophage ne le peuvent pas.

Avec M^{me} Doyle, nous avons étudié la production du bactériophage anti-Shiga en répétant avec le *Coli* Lisbonne les expériences que j'avais faites avec le *Coli* V et rapportées ci-dessus dans la deuxième partie de ce travail. Il serait fastidieux de rappeler ici ces expériences en détail. Il me suffira de dire que la façon dont le *Coli* Lisbonne engendre le bactériophage anti-Shiga et la façon dont le *Coli* V produit le principe anti- ϕ sont absolument identiques. Même conservation du bactériophage dans les cultures de *Coli* Lisbonne filtrées ou chauffées, même destruction dans les cultures vivantes. Même parallélisme entre la production du bactériophage et le développement de la culture, production d'autant plus grande que le milieu est plus favorable à la croissance et, à milieu égal, que le *Coli* Lisbonne est plus vivace. Une autre analogie frappante entre le pouvoir lysogène du *Coli* Lisbonne, d'une part, et le pouvoir anti- ϕ du *Coli* V, d'autre part, se retrouve encore dans les variations d'activité que manifestent ces souches, variations qui peuvent même aller, dans certains cas, jusqu'à la disparition plus ou moins temporaire, puis à la réapparition de l'activité. Lorsqu'on soumet à l'isolement une culture de *Coli* Lisbonne, on peut constater, — si cette culture est un peu âgée, — que les différentes colonies n'ont pas un égal pouvoir lysogène et même, si certaines sont d'emblée actives, il en est d'autres qui ne le deviennent qu'après quelques repiquages. Or, c'est exactement ce que nous avons vu dans la deuxième partie de ce mémoire pour la sécrétion du principe anti- ϕ par le *Coli* V. Là aussi, nous avons vu qu'au sein d'une même culture de *Coli* V, si celle-ci est un peu âgée, certains individus sécrètent d'emblée du principe anti- ϕ , tandis que d'autres ne le sécrètent qu'après des repiquages successifs plus ou moins nombreux. Lisbonne et Carrère [14] signalent d'ailleurs que deux cultures lysogènes sœurs, entretenues chacune dans un laboratoire différent, avaient, l'une, conservé son activité lytique et l'autre pas, et qu'inversement certaines souches reconnues comme non lysogènes par différents laboratoires étaient, un moment donné, devenues lysogènes. C'est, au fond, le même genre de varia-

tions que Twort [15] avait déjà décrites dans son premier mémoire. Il constatait, en effet, qu'à partir d'une souche de microcoques de la vaccine présentant la transformation vitreuse il pouvait isoler des colonies d'aspect normal donnant, dans la suite, une culture qui restait normale à travers de nombreux repiquages, puis qui, brusquement, redevenait malade. Ce fait parut à Twort difficilement conciliable avec l'hypothèse d'un virus qu'il avait d'abord imaginée.

Sans doute d'Hérelle considère-t-il les cultures lysogènes comme des cultures contaminées par du virus bactériophage auquel elles se seraient adaptées et avec lequel elles vivraient en symbiose, c'est-à-dire en somme des cultures « porteuses de germes ». Peut-être a-t-il raison, encore que Bordet ait longuement réfuté cette façon de voir, mais il est extrêmement curieux de constater que tout ce que nous venons de dire des variations du pouvoir lysogène du *Coli* Lisbonne nous l'avons trouvé de façon absolument parallèle pour la sécrétion du principe anti- ϕ par le *Coli* V, et il ne nous étonnerait pas de voir un jour des cultures de *Coli* V perdre toute capacité de produire leur principe actif pour le récupérer peut-être ensuite spontanément (1).

Tout conspire donc à nous donner au moins l'illusion que le bactériophage anti-Shiga, dont il s'agit, est un produit du métabolisme du *Coli* Lisbonne comme le principe anti- ϕ qui lui, sûrement, n'est pas un virus, est un produit du métabolisme du *Coli* V. La bactériophagie serait donc, conformément à l'hypothèse de Lisbonne et Carrère, un phénomène d'antagonisme microbien. Mais alors, si l'on comprend bien que le bactériophage pour le bacille de Shiga puisse être un produit du *Coli* Lisbonne comme la substance toxique pour le *Coli* ϕ est un produit du *Coli* V, comment expliquer que le premier puisse alors ensuite se régénérer aux dépens du Shiga, tandis que la seconde ne le fait pas aux dépens du *Coli* ϕ ? Il faut alors imaginer, comme nous l'avons fait à la fin de la première partie, que l'antagonisme au lieu de se manifester seulement

(1) Cette prévision de 1926 se trouve précisément confirmée en 1931 comme nous l'avons signalé à la fin de notre avant-propos. Il y a quelques mois, la souche V ne manifestait plus son pouvoir anti- ϕ , même après 40 repiquages successifs. Tout récemment elle a récupéré ce pouvoir spontanément.

entre deux souches microbiennes voisines, l'une lysogène et l'autre lysable, puisse aussi exister au sein d'une même culture et qu'un même microbe réunisse, à des âges différents de son évolution, les deux propriétés, lysogène d'abord et lysable ensuite. La régénération du bactériophage ne serait pas le fait de la vie de ce dernier, mais de la vie de la bactérie elle-même, ainsi que le défendent Bordet et Ciuca.

D'ailleurs, la reproduction dont le bactériophage est doué, et qui incontestablement éveilla d'abord l'idée de la vie, n'est pas l'apanage exclusif des êtres vivants. Je me suis plu jadis [16] à rappeler l'exemple de la thrombine et celui du feu. Depuis, Delezenne et M^{lle} Ledebt [17] ont découvert l'activation en série du suc pancréatique. L'on a encore ajouté d'autres exemples : celui de la maladie de l'étain notamment. D'Hérelle le reconnaît d'ailleurs et l'admet même pour le phénomène de Twort. Or, est-il nécessaire de le répéter, le phénomène de Twort et le phénomène de d'Hérelle ne font qu'un.

Mais, il reste un fait fondamental qui, dans mon esprit, suggère d'une façon obsédante l'idée d'un virus. On conçoit très bien, en effet, qu'un antagonisme existe entre le *Coli* Lisbonne et le Shiga, on conçoit même qu'un antagonisme identique existe au sein de la culture de Shiga elle-même, mais comment expliquer qu'une culture de Shiga, par son contact avec le *Coli* Lisbonne, acquiert, de toute pièce, un pouvoir lysogène qu'elle ne possédait en aucune façon auparavant? Comment le bactériophage, que dorénavant ce Shiga, grâce à ce pouvoir lysogène acquis, va régénérer à l'infini, conserve-t-il son caractère d'origine et reste-t-il toujours du bactériophage Lisbonne? Le même Shiga touché par un autre bactériophage d'une autre provenance peut acquérir un pouvoir lysogène différent du premier lui faisant régénérer cet autre bactériophage et ainsi de même, avec autant de bactériophages différents, tous conservant les caractères originels.

Cette notion simultanément mise en lumière il y a longtemps déjà par Bruynoghe et Appelmans [18] d'une part, avec le bacille typhique, et par moi-même [19], d'autre part, avec le staphylocoque peut à la rigueur s'expliquer par la conception de Bordet et Ciuca, mais elle plaide plutôt pour l'autonomie des bactériophages. C'est cette autonomie qui fait singulière-

ment songer à un être vivant. En vérité, un même microbe se comporte à l'égard de bactériophages de diverses origines, absolument comme une même cellule cutanée de génisse, par exemple, reproduit indifféremment, en conservant leur autonomie, le virus de la vaccine ou celui de la fièvre aphteuse. Et voici donc le bactériophage placé entre deux comparaisons défendables, celle d'une sécrétion microbienne d'une part, et celle d'un virus filtrable d'autre part. Il n'existe, à mon sens, aucune démonstration réellement cruciale qui permette de les partager; nous sommes réduits à un conflit de vraisemblances. Oserait-on dire que ces deux comparaisons ne sont pas contradictoires et peuvent être conciliées? Oserait-on supposer que le bactériophage puisse être à la fois une forme vivante autonome et une sécrétion cellulaire? Depuis longtemps déjà le sentiment existe qu'entre le monde vivant et le monde inanimé il pourrait peut-être ne pas y avoir de solution brusque de continuité; mais, au contraire, une transition ménagée de formes « précellulaires » de vie, comme dit Twort [20]. Déjà Beyerinck l'imaginait jadis pour la mosaïque du tabac avec son « fluidum contagiosum ». Duclaux ne disait-il pas aussi que les diastases pourraient être vivantes? Cette notion n'est donc pas neuve, et on ne peut s'empêcher de l'évoquer en lisant les travaux de Bail [21], Doerr [22], de Wollman [9], d'autres encore. Il se pourrait fort bien qu'il existât des formes de vie qui, tout en jouissant d'une certaine autonomie, soient tributaires des cellules qui les engendrent. Les virus filtrables, pas plus que le principe sarcomateux de Peyton Rous ou que le bactériophage, tout en étant autonomes, n'ont jamais pu être cultivés séparément des cellules aux dépens desquelles ils se multiplient. A ces formes intermédiaires de la vie qui seraient dans l'ordre décroissant, les virus filtrables, le principe de Peyton Rous, le bactériophage, il faudrait ajouter l'agent des singuliers phénomènes d'entraînement microbien récemment étudiés par E. Burnet [23]. Il faudrait aussi envisager la possibilité de régénération en série de certains ferments qui ont toujours été considérés comme des sécrétions cellulaires pures et simples. Il est vraisemblable qu'on trouverait ainsi un grand nombre de sécrétions transmissibles, si on les recherchait systématiquement, lorsqu'on songe que le phénomène du bactériophage, se

manifestant pourtant à nos sens de façon si visible, a pu nous échapper si longtemps. Ne pourrait-on pas voir, par exemple, la toxine sécrétée par un bacille diphtérique rendre toxigène en série une souche diphtérique atoxique? Ne pourrait-on pas alors aussi imaginer, comme on l'a fait, que l'agent de la scarlatine soit une « sécrétion » de certains streptocoques ou que celui du typhus exanthématique soit « sécrété » par certains *Proteus* X 19?

Twort a fait cette judicieuse remarque : lorsqu'il s'agit des microbes visibles, on distingue, à côté du petit nombre de microbes pathogènes, le monde énorme des bactéries non pathogènes se manifestant simplement par leurs actions fermentatives ; lorsqu'on descend, par contre, dans le domaine de l'invisible, on ne s'intéresse plus qu'aux seuls virus sources de maladies et l'on néglige le monde énorme qui doit correspondre dans l'invisible aux microbes non pathogènes. Il peut, en effet, y avoir là un vaste domaine inexploré, correspondant à celui des sécrétions transmissibles, dont l'étude du bactériophage nous amène à envisager l'existence. On objectera aussitôt que cela n'est peut-être pas très conforme à la théorie pastoriennne sur l'inexistence de génération spontanée. En vérité, la théorie pastoriennne, indiscutable pour les bactéries, n'est précisément peut-être pas valable pour les formes « précellulaires » de la vie et je rappelle ici à nouveau l'exemple du feu. Celui-ci, en quelque sorte image de la vie, a dû aux yeux de nos ancêtres pendant longtemps être considéré comme ne pouvant naître que d'une flamme déjà existante, et le culte de Vesta n'est-il peut-être que le témoignage rituel de cette croyance ; aujourd'hui chacun sait que non seulement le feu se transmet d'une flamme à l'autre, mais encore qu'il peut naître de la friction d'une allumette ou encore du travail de la fermentation.

Si, contrairement à ce que nous venons de supposer, il existe entre le monde vivant et le monde inorganisé une barrière infranchissable, alors toute conciliation entre l'hypothèse du bactériophage être vivant autonome et le bactériophage sécrétion microbienne devient absurde. C'est alors qu'une des deux comparaisons est une illusion. Il faudra opter pour l'une ou pour l'autre. L'avenir nous apprendra laquelle des trois éventualités envisagées ci-dessus s'imposera à nous par sa fécondité.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] GRATIA. *C. R. Soc. Biol.*, 43, 1925, p. 1040.
- [2] GRATIA et RHODES. *C. R. Soc. Biol.*, 40, 1924, p. 640.
- [3] TWORT. *The Lancet*, vol. II, 1925, p. 642.
- [4] DURAN REYNALS. *C. R. Soc. Biol.*, 44, 1926, p. 242 et 1330.
- [5] GRATIA et DATH. *C. R. Soc. Biol.*, 41, 1924, p. 1442; 42, 1925, p. 461 et 1125; 43, 1926, p. 451; 44, p. 1267.
- [6] LIESKE, *Morphologie und Biologie der Strahlenpilze*, 1923. Leipzig. Gebrüder Borntraeger.
- [7] SCHILLER. *Centr. f. Bakt.*, 91, 1923, p. 60.
- [8] PINOY. *C. R. Acad. Sc.*, 137, 1903, p. 580. VUILLEMIN. *Ibidem*, p. 387.
- [9] WOLLMAN. *Ces Annales*, 39, 1925, p. 789.
- [10] DOERR et GRUNINGER. *Zeitsch. f. Hyg. u. Inf. Krank.*, 97, 1922, p. 209.
- [11] BORDET. *Ces Annales*, 1925.
- [12] LISBONNE et CARRÈRE. *C. R. Soc. Biol.*, 85, 1922, p. 569; 88, 1923, p. 724.
- [13] DA COSTA CRUZ. *C. R. Soc. Biol.*, 89, 1923, p. 759.
- [14] LISBONNE et CARRÈRE. *C. R. Soc. Biol.*, 90, 1924, p. 265.
- [15] TWORT. *The Lancet*, 4 décembre 1915.
- [16] GRATIA. *Brit. med. Journ.*, 1922, p. 11.
- [17] DELEZENNE et LEDEST. *C. R. Acad. Sc.*, 175, 1922, p. 494.
- [18] BRUYNOGHE et APPELMANS. *C. R. Soc. Biol.*, 87, p. 96.
- [19] GRATIA et DE NAMUR. *C. R. Soc. Biol.*, 87, p. 364.
- [20] TWORT. *Veter. Journ.*, août-septembre 1922.
- [21] BAIL. *Deutsch. med. Wochenschr.*, 51, 1925, p. 13.
- [22] DOERR. *Bull. techn. Sc. méd.*, Genève, vol. I, 1925, p. 23.
- [23] Et. BURNET. *C. R. Soc. Biol.*, 93, 1925, p. 1422; *Arch. Inst. Past. Tunis*, 14, 1925, p. 384.